



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* sobre
Staphylococcus aureus atcc 25923: estudio *in vitro*

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO

AUTORA:

BRITO CASTILLO, JAZMÍN ZAYURY (ORCID: 0000-0003-1419-0784)

ASESORES:

DRA LLAQUE SÁNCHEZ, MARÍA ROCÍO DEL PILAR (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

MG. BLGO. POLO GAMBOA, JAIME (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

DRA IRMA LUZ YUPARI AZABACHE (ORCID:0000-0002-0030-0172)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES.

TRUJILLO – PERÚ
2019

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a Mi madre, Mi padre,
quienes siempre estuvieron conmigo, apoyándome
y valorando cada esfuerzo que daba, entregando
toda su confianza y amor,

A mi hermano quien me pudo brindar su compañía
en este proceso tan largo y apoyándome cada día.

Brito Castillo Jazmín Zayury

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, doy gracias a Dios por haberme dado fuerza y valor para culminar esta primera etapa de mi vida profesional.

A mi madre Mercedes, por ser el pilar más importante de mi vida y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional, que, sin duda alguna, en el trayecto de mi vida me ha demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mi padre Miguel, que siempre lo he tenido presente en mi vida, que vive con el principal propósito de verme realizada como una profesional de éxito, brindándome su apoyo rotundo; orgulloso por la persona en la cual me he convertido.

A mi hermano Bragjean, que a pesar de nuestras diferencias estuvo en la última etapa de mi carrera, mostrándome su apoyo perenne y comprendiendo los sacrificios que he realizado.

Brito Castillo Jazmin Zayury

El jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don (a):


Beto Castillo Sojoma Torrey, cuyo título es:

Efecto Antimicrobiano del Extracto oleoso Syzygium
aromaticum sobre Staphylococcus aureus
ATCC 25923. Estudio in vitro

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, ortográficamente calificado de: 13 (número) Trece

y cero centésimas (letras)

05 de diciembre del 2019



MG. Ricci Ponce de López

PRESIDENTE



Dra. María Rocío del P. Llaque Sánchez

SECRETARIO



MG. Polo Gamboa Jaime A.

VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vice Rectorado de Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	---------------------------------

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **BRITO CASTILLO JAZMÍN ZAYURY** con DNI N° 73482777 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompañan a la tesis titulada "**Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: ESTUDIO IN VITRO**" son de

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 05 de Diciembre del 2019 "



Brito Castillo jazmín Zayury

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento anteustedes la Tesis titulada: **“Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de Syzygium Aromaticum Sobre Staphylococcus Aureus ATCC 25923: ESTUDIO IN VITRO”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora

Brito Castillo Jazmín Zayury

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

CARATULA.....	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ACTA DE APROBACION DE TESIS.....	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	v
PRESENTACIÓN.....	vi
ÍNDICE.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. MARCO METODOLÓGICO.....	06
2.1. Diseño de investigación.....	07
2.2. Variables, operacionalización.....	07
2.3. Población y muestra	08
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	09
2.5. Métodos de análisis de datos.....	09
2.6. Aspectos éticos.....	09
III. RESULTADOS.....	10
IV. DISCUSIÓN.....	14
V. CONCLUSIONES.....	16
VI. RECOMENDACIONES.....	17
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
ANEXOS	

RESUMEN

Se evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus atcc* comparado con Oxacilina. Se utilizaron diferentes concentraciones del aceite esencial (200, 100; 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 y control con oxacilina) mediante el método de dilución en tubos de ensayo. Se evidenció inhibición del crecimiento y del desarrollo bacteriano su CIM fue de 6.25 mg/ml, para que empiece a tener efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siendo nula el crecimiento al 100%. Según CLSI CIM Oxacilina para *S. aureus* $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ sensible $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ resistente Los diámetros de inhibición para las concentraciones de 3.13, NaCl 0.9% presentaron crecimiento y desarrollo bacteriano, lo cual determina resistencia bacteriana a esta concentración. Se concluye que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* al 200; 100; 75; 50 y 25% de dilución son eficaces como antimicrobiano comparado oxacilina (1ug), pero sin superar la capacidad antibacteriana de la oxacilina.

Palabras claves: *Syzygium aromaticum*, “Clavo de olor”, oxacilina, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

The in vitro antimicrobial effect of the oily extract of *Syzygium aromaticum* "Clove" on *Staphylococcus aureus* atcc compared to Oxacillin was evaluated. They are used in different essential oil methods (200, 100; 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 and oxacillin control) by the dilution method in test tubes. Inhibition of bacterial growth and development was evidenced in its MIC was 6.25 mg / ml, to begin to have an antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, the growth being 100%. According to CLSI CIM Oxacillin for *S. aureus* $\leq 2 \mu\text{g} / \text{ml}$ sensitive $\geq 4 \mu\text{g} / \text{ml}$ resistant Diameters of inhibition for concentrations of 3.13, NaCl 0.9% growth and bacterial development, which determines bacterial resistance at this concentration. It is concluded that the essential oil of *Syzygium aromaticum* 200; 100; 75; 50 and 25% dilution are easily as antimicrobial compared to oxacillin (1ug), but without exceeding the antibacterial capacity of oxacillin.

.

Key words: *Syzygium aromaticum*, Clove, oxacillin, , *Staphylococcus aureus*

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* son y suelen ser comunes a nivel mundial generando problemas de salud a nivel de piel y mucosas en niños, adolescentes y adultos sanos, ampliando su rango de infección y generando enfermedades tales como: Neumonía, bacteriemia, sepsis y lesiones leves en la piel en los pacientes. Este se encuentra presente no solo en países del tercer mundo, sino también en países desarrollados. Siendo los ambientes hospitalarios identificados como las principales fuentes de infección en los pacientes no solo a nivel de Perú y Latinoamérica, si no a nivel mundial. A pesar de esto podemos encontrar casos de infección de *Staphylococcus aureus* a nivel extrahospitalario. El primer brote epidémico en Latinoamérica fue reportado en Uruguay, mostrando el caso de dos prisioneros, tiempo después se anunciaron casos en Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador y Paraguay.(1)

La principal causa de la infección del ser humano por esta bacteria es la falta o deficiencia de la higiene y sepsis de la zona infectada, sin dejar de mencionar el aumento de resistencia a los antibióticos, siendo el *Staphylococcus aureus* considerado de los patógenos más comunes encontrados en exámenes laboratoriales, ya que este patógeno coloniza rápida y fácilmente la piel y mucosas del ser humano. La vía de infección y diseminación de esta bacteria es generada por la proximidad de los pacientes infectados con otros seres humanos, estos suelen ser, presos, homosexuales, participantes de deportes de contacto, personas que se realizaron recientemente tatuajes y usuarios de drogas intravenosas, así también como guarderías.(1)

Las plantas medicinales han sido la base de la medicina tradicional de los habitantes de zonas rurales de todo el mundo desde los inicios de la humanidad hasta la antigüedad hasta la actualidad. Las plantas han sido una parte importante de los antiguos métodos de medicina tradicional y alternativa en muchas culturas alrededor del mundo durante miles de años. Se estima que el 40% de la población mundial depende directamente de las plantas como medida o método o medio de curación y cuidado de su salud y bienestar físico y mental. La India es una de los principales poseedores de plantas medicinales, de las cuales 150 especies se utilizan como materia prima para la producción de medicamentos. En los últimos años, se tuvo como objetivo identificar y aislar sustancias derivadas de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades. Casualmente, se considera que más del 25% de la medicina moderna deriva directa o indirectamente de plantas. Vale mencionar que las plantas se consideran una fuente importante de principios activos y compuestos farmacológicos, los cuales se usan en remedios caseros contra múltiples males.(2)

El *Syzygium aromaticum* conocido como “clavo de olor”, es considerada una planta medicinal importante, empleado de diversas maneras, en el ámbito culinario cotidiano, posee propiedades beneficiosas para la salud, a pesar de toda la información sobre esta planta, no se han llegado a utilizar todas sus propiedades. Estudios anteriores concluyeron que es sumamente versátil, ya que en la vida cotidiana es empleado como analgésico y antiséptico, aprovechando sus propiedades para gran variedad de problemas de salud. Los atributos terapéuticos del clavo de olor, derivan de su aceite esencial, este contiene a su vez el “*Eugenol*”, siendo el componente principal en dar al clavo de olor tantas propiedades medicinales.(1)

Debido a estos hallazgos se investigó profundamente el componente químico, las características que posee y por ende sus cualidades medicinales e incrementando sus destrezas para el uso final del procedimiento posterior a la extracción de estos principios activos.(2)

Tras los hallazgos y sucesos ocurridos últimamente, La Organización Mundial de la Salud hizo un llamado para incrementar control de resistencia contra los antibacterianos, fomentando y difundiendo medidas y políticas nacionales a nivel mundial que promueven la mejora sostenible, para el mejor empleo de los antibióticos en los tratamientos de una manera razonable; para alcanzar con facilidad cifras de disminución de resistencia de microorganismos específico, por medio del uso de antimicrobianos específicos, y a la vez incentivar el desarrollo de nuevos antimicrobianos para el uso médico. La supervivencia del ser humano se da gracias a un adecuado y delicado balance entre la flora bacteriana existente en la persona, denominándose a este grupo de bacterias como microbiota interno y a los microorganismos externos que están expuestas al medio ambiente, limitando su patogenia por medio de medidas de protección como lo es sistema inmune: células, humoral y tejidos. En algunas oportunidades esta armonía falla, permitiendo el desbalance de microorganismos y generando el inicio de una infección la cual de manera inminente genera la enfermedad.(3)

Actualmente las enfermedades infecciosas son una de las causas más importantes de mortalidad a nivel mundial, sobre todo en países subdesarrollados como el Perú, debido a esto el inicio del tratamiento de una enfermedad de origen infeccioso debe ser rápida, eficaz y acertada para lograr un efecto trascendental en los indicadores de la salud del país. Desafortunadamente en nuestro país nos enfrentamos a una variada resistencia por parte de microorganismos frente a los antibióticos actuales. Esto se da gracias al cambio estructural y molecular de las estructuras de las bacterias, disminuyendo su vulnerabilidad, generando el aumento de la resistencia exponencialmente durante estos últimos diez años. Se habla de cepas que han sido suspicaces a

los antibióticos más comunes por años, poseyendo la capacidad de desarrollar resistencia rápidamente a los antibióticos actuales.(3)

El *Syzygium aromaticum* contiene dentro de todos sus componentes al *Acetato de Eugenol*, considerando un componente importante con gran capacidad antimicrobiana, evidenciada en estudios recientes, su gran actividad determinada en concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) y valores mínimos de concentración bactericida (CBM).(4)

Estos hallazgos aportan información valiosa para la creación de fármacos a base de este compuesto que apunten al tratamiento contra enfermedades generadas por el *Staphylococcus aureus* y así contribuir con la disminución de la resistencia microbiana a los fármacos.(5)

Pastrana Y. et al (Colombia, 2017) estudiaron el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* mediante difusión en agar y diluciones dobles en caldo. Los extractos de canela y clavo, no provocaron ningún efecto antimicrobiano sobre *Salmonella spp.* En concentraciones de 100 y 150 mg/mL, si mostraron un efecto antimicrobiano sobre *E. coli* y *S. aureus*, concluyendo que el aceite esencial si posee efecto antimicrobiano sobre *S. aureus*. (6)

López P. et al (España, 2015) evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de diferentes plantas en las que estaba incluido el “clavo de olor” *Syzygium aromaticum*, mediante dos tipos de pruebas (difusión de sólidos y vapor) sobre diferentes bacterias entre las cuales se incluyó al *Staphylococcus aureus*, Durante las pruebas de difusión sólida, la canela y el clavo generaron la mayor inhibición. Los resultados para *S. aureus* a una Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de 26.2 mg/ml, siendo evidente la actividad antibacteriana. Concluyendo que el clavo de olor posee un significativo efecto antibiotico sobre el *Staphylococcus aureus*.(7)

Naveed R. et al (Pakistán, 2013) evaluaron el efecto antibiotico del aceite esencial de diferentes especias entre ellas el *Syzygium aromaticum*, sobre distintas cepas de bacterias entre ellas el *Staphylococcus aureus*, mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC). El análisis de prueba demostró que *S. aromaticum* contiene 0.73% de eugenol, 17.2% de cuminaldehído, 5.2% de eucaliptol y 4.3% de t-cinamaldehído, respectivamente. Concluyeron que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* posee efecto antibacteriano significativo contra *Staphylococcus aureus* con resistencia a múltiples fármacos.(8)

Ali N. et al (Pakistán, 2011) determinaron el efecto antimicrobiano de extractos de plantas medicinales contra microorganismos aislados. Se utilizaron 27 plantas entre ellas la *Syzygium aromaticum* sobre diferentes bacterias, entre ellas *Staphylococcus aureus*. Se evaluó la MIC de diferentes extractos mediante dilución de microbrotes. Obteniendo como resultado que *S. aromaticum* inhibió el crecimiento de *S. aureus*, con valores de una MIC en el rango de 3.1 – 6.2 mg / ml evidenciando la efectividad antimicrobiana.(9)

García C. et al (México, 2009) determinaron el efecto antibiotico del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* contra *S. aureus*. Las cepas de *S. aureus* fue muy sensible al extracto oleoso de *Syzygium aromaticum*, se evidencio una mejor eficacia antimicrobiana por parte del extracto oleoso esencial de *S. aromaticum*. Concluyendo que tanto los extractos alcohólicos, hidroalcohólicos y el aceite esencial de las diferentes plantas son similares y poseen efecto antibiótico efectivo contra *S. aureus*.(10)

Khan R. et al (India, 2009) evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de cinco plantas contra cepas resistentes a múltiples fármacos entre ellas: *Staphylococcus aureus*. Las cepas MDR fueron sensibles a la actividad antimicrobiana de *Syzygium aromaticum* y *Cinnamum zeylanicum*, mientras que exhibieron una fuerte resistencia a los extractos de *Terminalia arjuna* y *Eucalyptus globulus*. concluyeron que *S. aromaticum* poseen efecto contra microbios resistentes a múltiples fármacos que causan infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad.(11)

Romero J. (Chiclayo, 2017) determino el efecto antibiotico de los extractos etanólicos de clavo de olor y de granada contra cepas para microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Pseudomonas aeruginosa*; la especie más susceptible a los extractos etanólicos de clavo de olor y granada fue *Staphylococcus aureus* y la que presentó menos sensibilidad fue *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados obtenidos para el extracto etanolico de *Syzygium aromaticum* contra *Staphyococcus aureus* fue 50mg/ml.(12)

El *Staphylococcus aureus*, es un coco Gram positivo, responsable de variadas enfermedades iniciando afecciones dérmicas y tejidos blandos, así mismo causante de bacteriemias, comprometiendo al sistema nerviosos central, infecciones urinarias, entre otras. Este microorganismo fue el agente etiológico de las principales infecciones en pacientes en los años 70.(13)

Para combatir a esta bacteria se han creado fármacos derivados de la familia de los betalactámicos, pero, por medio de múltiples factores, tales como: terapia inmunosupresora, el uso de catéter invasivos, el uso inadecuado y desmedido de antibióticos, así como el no cumplimiento del tratamiento antibiótico, ha favorecido la creación de resistencia bacteriana farmacológica. Por los años setenta fueron descubiertas las primeras cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (MRSA). Estas por medio de muchos mecanismos como el incremento de producción de betalactamasas, modificación de las proteínas ligadas de betalactamasas (PBP) ha conllevado a la creación y búsqueda de nuevos fármacos que apunten al tratamiento de estos microorganismos resistentes, como el uso de Vancomicina y Linezolid.(13)

El tratamiento contra el *Staphylococcus aureus*, se basa en el empleo de fármacos betalactámicos, dentro del grupo de las penicilinas resistentes a penicilinasas, tales como la oxacilina, dicloxacilina, y las cefalosporinas. Estos medicamentos no son afectados por las betalactamasas, que le confieren protección hacia el *Staphylococcus aureus*, es por ellos que estos medicamentos en especial la oxacilina siguen siendo utilizados como terapia de primera línea para infecciones asociadas a *Staphylococcus aureus*.(14)

Syzygium aromaticum, conocido como clavo de olor, es una planta en forma de arbusto o árbol de tamaño mediano con copa cónica o piramidal, de 9 a 12 metros de alto y en ocasiones suele llegar a tener mayor tamaño. Cuenta con una altura de 1,5 a 1,8 metros. Su corteza es de superficie lisa y coloración gris. Originarias de las islas Molucas y cultivadas en Madagascar, Zanzíbar e Indonesia. Suele vivir a una altitud hasta 900 msnm y su temperatura media varía alrededor de los 25 ° Celsius. El clavo de olor se utilizó como fragancia y especia por más de 2,000 años en China. Esta planta contiene tres aceites esenciales: clavo de olor aceite de yema, aceite de hoja de clavo y aceite de tallo de clavo. (15)

Cada uno contiene diferente composición en cuanto sabor y su bioquímica. Sus principales componentes son eugenol, eugenol acetato, β -cariofileno, , chavicol, salicilato de acetilo y en pocas cantidades alcohol bencílico y humulenes.(16)

El mecanismo de acción de estos aceites esenciales contra bacterias Gram (+), se debe a sus componentes que destruyen la pared celular y la membrana citoplasmática, resultando en un derrame del citoplasma y su coagulación posterior, inhibiendo la síntesis de proteínas ARN, ADN, así facilitando la muerte celular bacteriana. (6)

El problema planteado fue ¿Tiene efecto antimicrobiano el extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” en comparación con la oxacilina (1ug) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio *in vitro*?

El presente proyecto de investigación se realizó debido a la presencia de una gran resistencia de cepas de *S. aureus* a los antibioticos actuales, reportando cifras crecientes y preocupantes en el ámbito de la salud a nivel mundial, constatando que la tasa de infección por dicha bacteria ha aumentado durante los últimos 20 años, siendo notificada una fuente común de infección intrahospitalaria reportada y asociada a la alta incidencia de enfermedades infecciosas, consideradas de alta mortalidad y morbilidad para el ser humano en todas las edades. Estudios realizados en nuestro país demostraron que existe una alta incidencia de infección producida por este agente infeccioso, sobre todo de ambientes que contribuyen alto riesgo de contraerlo como en centros hospitalarios de atención compleja y sobre todo en las unidades cuidados intensivos críticos y área de quemados.

Este proyecto se basó en la utilización del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* como antimicrobiano contra *S. aureus*, aprovechando su fácil accesibilidad y encontrándose presente en nuestro entorno siendo fuente abundante de compuestos bioactivos, poniendo a prueba la acción de sus compuestos fenólicos, su potencial antioxidante y su acción antibacteriana contra las bacterias patógenas.

La hipótesis que se generará del problema fue: El extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” tiene efecto antimicrobiano en comparación con la oxacilina (1 ug), sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio *in vitro*.

El obeitivo general planteado fue evaluar el efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” en comparación con la oxacilina sobre *Staphylococcus aureus atcc 25923*, en un estudio *in vitro*.

Los objetivos específicos fueron determinar la concentración inhibitoria mínima CIM del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum*. Establecer el efecto antibiótico de la oxacilina

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

TIPO DE INVESTIGACIÓN: BÁSICO porque genera nuevos conocimientos, pero no es de aplicación inmediata. (16)

EL DISEÑO DE INVESTIGACIÓN FUE: experimental con repeticiones múltiples donde se experimentó con nueve repeticiones considerando el primer grupo las diluciones del extracto etanolico de *S. aromaticum* al 200 ,100; 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, segundo grupo control con oxacilina 1 μ y el tercer grupo control con DMSO. (ver anexo 01) (16)

2.2. VARIABLES, OPERACIONALIZACIÓN

Se tiene dos tipos de variables

Independiente: es el tratamiento antibacteriano de extracto de clavo de olor.

- a) No farmacológico: concentración del extracto *Syzygium aromaticum*.
- b) Farmacológico: Oxacilina diluida.

Dependiente: es el efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*

Eficacia: menor o igual a 2mg/ml. Es la variable cualitativa.

No eficaz: mayor a 2mg/ml. Es la variable cualitativa.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADO RES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: El tratamiento antibacteriano	La administración de sustancias comportándose de diversas maneras: como bactericidas y como bacteriostáticos. ¹⁷	La población será dividida en Donde: G1: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 200% G2: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 100% G3: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 50% G4: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 25% G5: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 12.5% G6: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 6.25% G7: Extracto oleoso de <i>Syzygium aromaticum</i> 3.13% G8: Control negativo NaCl 0.9%. G9: Control positivo: con oxacilina	RG1 X1 O1 RG2 X2 O2 RG3 X3 O3 RG4 X4 O4 RG5 X5 O5 RG6 X6 O6 RG7 X7 O7 RG8 X8 O8 RG9 X9 O9	Cualitativo nominal
VD: efecto antibacteriano	Relativo a una sustancia que destruye a las bacterias siendo capaz de inhibir el crecimiento, replicación ¹⁸	Se considera eficaz mediante el método de dilución ¹⁸ : Sensible: menor o igual a 2mg/ml. Resistente: mayor o igual a 4mg/ml.	Si eficaz menor o igual a 2mg/ml. No eficaz mayor a a 2mg/ml.	Cualitativo nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN: conjunto de cepas *Staphylococcus aureus* .

MUESTRA:

Tamaño de muestra:

Debido a ser un estudio experimental se trabajó con las diferencias de promedios para hallar la mic necesaria que validen la investigación considerando 6 repeticiones por grupo. (16) .(Ver anexo 04)

Unidad de análisis: Cada tubo de dilución en observación con la bacteria en estudio

Unidad de muestra: Cada tubos con la bacteria en estudio.

Muestreo: Aleatorio simple

Se incluyeron: cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 donde se evidencio crecimiento.

Se excluyeron: cepas de *Staphylococcus aureus* donde no hubo crecimiento.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

TÉCNICA:

Observación directa de crecimiento de las colonias en cada tubo de dilución.

PROCEDIMIENTO: se consideraron los siguientes pasos (Anexo 3)

- a. Certificación de la planta por el laboratorio de BIOLOGÍA de la Universidad Antenor Orrego.
- b. Obtención del extracto por método de arrastre con vapor de agua.²⁰
- c. Cultivo, dilución en tubo.²¹
- d. Prueba de sensibilidad del CLSI.¹⁹

INSTRUMENTO: Se utilizo la ficha de recolección de datos, recogió el número de repeticiones, las diluciones y los resultados de los cultivos. (ver anexo 04)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento fue validado por un microbiólogo, un médico y un estadístico, donde garantizaron que sea relevante evaluando las variables de estudio. (ver anexo 05)

3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información fue procesada por el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) VS. 26 para Windows. Anova y Tukey ; grafico de cajas y bigotes.

3.4. ASPECTOS ÉTICOS:

El estudio se realizó respetando los criterios de la Normas de ética MINSA ^{en}, las normas de bioseguridad se respetaron en laboratorio. (ver anexo 06)²²

III. RESULTADOS

TABLA 1. Análisis descriptivo de las diluciones utilizadas del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y Oxacilina

Concentración en mg/ml		N		Media		Desv. Desviación		Desv. Error		95% del intervalo de confianza para la media		Mín	Máx
										Límite	Límite		
										inferior	superior		
Oxacilina		6		100.00		0.000		0.000		100.00	100.00	100.00	100.00
NaCl 0,9%		6		0.00		0.000		0.000		0.00	0.00	0.00	0.00
3.13		6		0.00		0.000		0.000		0.00	0.00	0.00	0.00
6.25		6		13.89		19.484		7.954		-6.56	34.34	0.00	50.00
12.50		6		47.22		19.484		7.954		26.77	67.67	33.33	83.33
25.00		6		77.78		36.003		14.698		39.99	115.56	16.67	100.00
50.00		6		88.89		20.184		8.240		67.71	110.07	50.00	100.00
100.00		6		100.00		0.000		0.000		100.00	100.00	100.00	100.00
200.00		6		100.00		0.000		0.000		100.00	100.00	100.00	100.00
Total		54		58.64		44.479		6.053		46.50	70.78	0.00	100.00

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 2: Prueba de ANOVA utilizado para la comparación del efecto del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y oxacilina sobre *Staphylococcus aureus*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	92540.786	8	11567.598	42.271	0.000
Dentro de grupos	12314.519	45	273.656		
Total	104855.305	53			

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 3: Prueba de Tukey para la determinación de la diferencia entre los efectos del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones y oxacilina sobre *Staphylococcus aureus*

HSD Tukey^a

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
NaCl 0,9%	6	0.00		
3.13	6	0.00		
6.25	6	13.89		
12.50	6		47.22	
25.00	6		77.78	77.78
50.00	6			88.89
100.00	6			100.00
200.00	6			100.00
Oxacilina	6			100.00
Sig.		0.870	0.058	0.349

Fuente: Ficha de recolección de datos

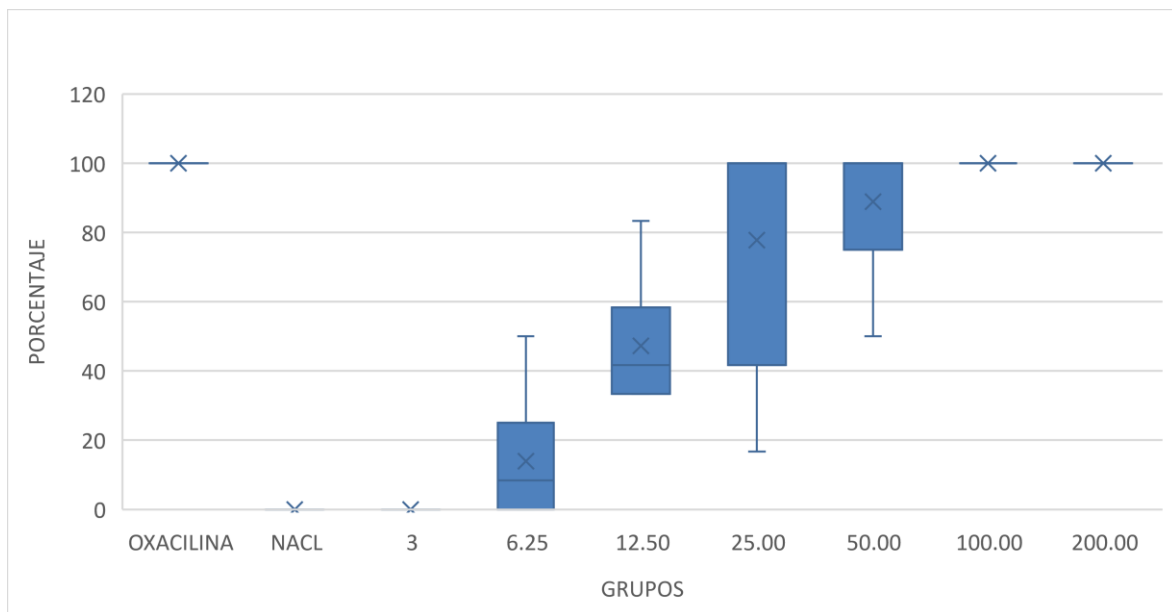


Gráfico 1. Comparación del efecto antibacteriano del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones, oxacilina y solución de NaCl 0,9%, sobre *Staphylococcus aureus*.

Fuente: Ficha de recolección de datos

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto antimicrobiano del aceite oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” en comparación con la oxacilina sobre *Staphylococcus aureus atcc 25923*, en un estudio *in vitro*. Los resultados fueron los siguientes:

En la tabla 1 se observa que la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” fue de 6.25 mg/ml, para que empiece a tener efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Lo que indica que el 13.89% de las pruebas realizadas tuvieron una CIM de 6.25 mg/ml; 47.22% tuvieron CIM de 12.5 mg/ml; 77.78% con CIM de 50 mg/ml; y el 100% de las pruebas tuvo una CIM de 100 mg/ml y 200 mg/ml. 100% de las pruebas no tuvo efecto inhibitorio a 3.13 mg/ml. Por otra parte, la oxacilina a 5mg/ml inhibió al 100% de las pruebas.

En la Tabla 2 se observa la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de las CIM encontradas para las diferentes concentraciones de extracto oleoso de clavo de olor, oxacilina y NaCl 0,9%. El valor de $p=0.000$ indica que la diferencia de medias es significativa en las efecto antibacteriano (CIM) de los agentes antibacterianos utilizados (extracto oleoso de clavo de olor a diferentes concentraciones, oxacilina y NaCl 0,9%), para un nivel de confianza de 0,05. Estos resultados indican que existe diferencia significativa en por lo menos 2 de los 9 promedios de CIM observados, por ello, se hizo una prueba pos ANOVA.

En la Tabla 3 se muestra la prueba pos hoc HSD Tukey que se aplicó a los promedios de las CIM de los 9 grupos analizados, y se observa que se formaron 3 subconjuntos. Los observado indica que el extracto oleoso de clavo a 3.13mg/ml, 6.25mg/ml y NaCl 0.9% formaron el subconjunto 1, por lo que tienen similar efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. De forma semejante, el extracto oleoso de clavo a concentración de 12.5mg/ml y 25mg/ml tienen efecto antibacteriano similar, debido a que formaron el subconjunto 2, y formaron el suconjunto 3 el resto de grupos, siendo los de mayor efecto antibacteriano la oxacilina y el extracto oleoso de clavo a 100mg/ml y 200mg/ml.

El Gráfico 1 muestra las diferencias entre los efectos (CIM) que tienen los compuestos utilizados, presentando igual efecto antibacteriano (máxima eficacia) la oxacilina y el extracto oleoso de clavo a concentraciones de 100mg/ml y 200mg/ml. Por el contrario, la solución de NaCl 0.9% y extracto oleoso de clavo a 3.13mg/ml no presentan efecto antibacteriano (0% de eficacia).

El efecto antibacteriano observado se debe a que los componentes del extracto oleoso destruyen la pared celular y la membrana citoplasmática, lo que resulta en el derrame del citoplasma y su coagulación; además, de inhibir la síntesis de ADN, ARN y proteínas confirmando su efecto. Esto se ve reflejado en **Romero J et al. (12)** que obtuvo un resultado de 50mg/ml como concentración mínima inhibitoria para ser efectivo contra *Staphylococcus aureus*. Pero en el trabajo de **Khan R et al (11)** el resultado fue de 7.80mg/ml mostrando un efecto antibacteriano a menor concentración; **García C et al (10)** tuvieron un resultado de 1.38 mg/ml del extracto oleoso esencial de clavo contra *S. aureus*, aproximándose más al resultado obtenido por la oxacilina de 0.21 mg/ml, esto se ve reflejado en su mecanismo de acción potente betalactámico (penicilina) bactericida que inhibe la síntesis de los mucopéptidos de su pared celular.

V. CONCLUSIONES

1. El extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” tuvo efecto antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, llegando a presentar la misma eficacia que la oxacilina a concentraciones de 100mg/ml y 200mg/ml.
2. La Concentración Inhibitoria Mínima a la cual comienza a tener efecto antibacteriano el extracto oleoso de *Syzygium aromaticum*, es a la concentración de 6.25mg/ml (13.89% de las pruebas realizadas)
3. La oxacilina a 5mg/ml tuvo 100% de efecto antibacteriano contra *S. aureus*.

VI. SUGERENCIAS

1. Utilizar el aceite de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” en combinación con los medicamentos de poca eficacia en bacterias resistentes como lo es *Staphylococcus aureus* atcc 25923 para estudiar si mejora la actividad antimicrobiana.
2. Utilizar el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* frente a otros patógenos Gram positivos y Gram negativos.
3. Incrementar la difusión de estudio, para la aplicación en animales y evaluando la eficacia antibiótica en el organismo propiamente dicho , evaluando sus efectos adversos del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*.
4. Realizar lociones de aceite de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor” a la concentración que inhibe el crecimiento bacteriano para combatir las enfermedades dérmicas producidas por *Staphylococcus aureus*: síndrome de la piel escaldada estafilocócica, foliculitis, Celulitis entre otras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. IICA. Seminario de Profesores de Botanica de Las Facultades de Agronomía de Los Países Bolivarianos. 1era edición Universidad Nacional de Colombia Bogotá 1967; 1era edición, 308 p. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=m8kOAQAIAAJ&printsec=frontcover&source=gb_s_ummmary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
2. El-Maati MFA, Mahgoub SA, Labib SM, Al-Gaby AMA, Ramadan MF. Phenolic extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) with novel antioxidant and antibacterial activities. *European Journal of Integrative Medicine* [Internet]. 1 de agosto de 2016 [citado 10 de mayo de 2018];8(4):494-504. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876382016300129>
3. Echevarria Zarate J, Iglesias Quilca D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Revista Medica Herediana* [Internet]. octubre de 2003 [citado 10 de mayo de 2018];14(4):195-203. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1018-130X2003000400008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
4. Ajiboye TO, Mohammed AO, Bello SA, Yusuf II, Ibitoye OB, Muritala HF, et al. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* seed: Studies on oxidative stress biomarkers and membrane permeability. *Microbial Pathogenesis* [Internet]. 1 de junio de 2016 [citado 10 de mayo de 2018];95:208-15. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401015302400>
5. Mandal S, Saha K, Pal NK. In Vitro Antibacterial Activity of three Indian Spices Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Oman Med J* [Internet]. septiembre de 2011 [citado 10 de mayo de 2018];26(5):319-23. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3215437/>
6. Pastrana Peluche YI, Acevedo Correa D, Durango Villadiego AM. EFECTO ANTIMICROBIANO DEL CLAVO Y LA CANELA SOBRE PATÓGENOS. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [Internet]. 2017 [citado 10 de mayo de 2018];15(1):56. Disponible en: <http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/view/535>
7. López P, Sánchez C, Batlle R, Nerín C. Solid- and Vapor-Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [Internet]. agosto de 2005 [citado 10 de septiembre de 2018];53(17):6939-46. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf050709v>
8. Naveed R, Hussain I, Tawab A, Tariq M, Rahman M, Hameed S, et al. Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against *Salmonella* and other multi-drug resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine* [Internet]. 14 de octubre de 2013 [citado 16 de septiembre de 2018];13. Disponible en: <http://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-13-265>
9. Ali NH, Faizi S, Kazmi SU. Antibacterial activity in spices and local medicinal plants against clinical isolates of Karachi, Pakistan. *Pharmaceutical Biology* [Internet]. agosto de 2011 [citado 11 de septiembre de 2018];49(8):833-9. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880209.2010.551136>
10. García L, Alonso R, Rodríguez M, Martínez R, Ramírez B, Moreno R, Susceptibilidad in vitro de una Cepa de *Staphylococcus aureus* Resistente a Diferentes Extractos Vegetales, *Revista Agraria - Nueva Epoca- Año VI 2009, Vol. 6 · No. 1, 2, 3, pag 19-22* [Internet]. [citado 10 de mayo de 2018]. Disponible en: [http://www.uaaan.mx/agraria/attachments/article/62/Agraria_2009\(6\)1-3-4.pdf](http://www.uaaan.mx/agraria/attachments/article/62/Agraria_2009(6)1-3-4.pdf)
11. Khan R, Islam B, Akram M, Shakil S, Ahmad AA, Ali SM, et al. Antimicrobial Activity of Five Herbal Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus of Clinical Origin. *Molecules* [Internet]. 4 de febrero de 2009 [citado 17 de agosto de 2018];14(2):586-97. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1420-3049/14/2/586>

12. Romero J, Villegas E. Efecto inhibitorio in vitro de extractos etanólicos de la cáscara de *Punica granatum* “granada” y *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae* [Tesis de Titulación] Perú: DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS; 2017. Disponible en : <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/1248/BC-TES-TMP-80.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
13. GIL D de M. M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Revista chilena de infectología [Internet]. 2000 [citado 26 de abril de 2018];17(2). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182000000200010&lng=en&nrm=iso&tlng=en
14. Camarena J, Sánchez R. INFECCIÓN POR *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA. Control Calidad SEIMC. Valencia. 2000. 1-3. [Internet]. [citado 10 de mayo de 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/242174791_INFECCION_POR_Staphylococcus_aureus_RESISTENTE_A_METICILINA
15. MALINALLI · herbolaria médica: CLAVO DE OLOR, CLAVERO DE OLOR - clove - *Syzygium aromaticum*, *Eugenia aromaticum* o *Eugenia caryophyllata* [Internet]. [citado 27 de abril de 2018]. Disponible en: <http://malinalli-herbolariamedica.blogspot.pe/2010/09/clavo-de-olor-clavero-de-olor-clove.html>
16. Hernández Sampieri, Roberto; et al. Metodología de la Investigación. 5ª. ed. McGraw-Hill. México, D.F., 2001. Pág. 52 - 134.
17. Paredes F, Roca JJ. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. Offarm [Internet]. [citado 10 de mayo de 2018];116-24. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-los-antibioticos-perspectiva-medicacion-13059414>.
18. Mosby. Diccionario de medicina Océano- Mosby 6ª ed. Barcelona: Océano 2011. Pag 105.
19. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018, Pag 182.
20. INTRODUCCIÓN A LA INDUSTRIA DE LOS ACEITES ESENCIALES EXTRAÍDOS DE LAS PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS [Internet]. [citado 29 de septiembre de 2018]. Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medical_es_aromaticas/
21. DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf [Internet]. [citado 29 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
22. Ministerio de Salud – MINSA, Gobierno del Perú [Internet]. Sistema de Gestión de la Calidad del PRONAHEBAS - MANUAL DE BIOSEGURIDAD: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, Lima 2014. (Citado 10 de setiembre de 2018. Disponible en http://www.upch.edu.pe/faest/images/stories/upcyd/sgc-sae/normas-sae/MANUAL_DE_BIOSEGURIDAD.pdf.
23. Wayne D. Bioestadística: Base Para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Mexico: Limusa Wiley; 2010.

ANEXO 01

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para comparación de dos promedios

- a) Cuando la varianza es conocida: muestra preliminar para cada grupo.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha/2}$: **1.96** Valor de la distancia normal estandarizada para el nivel de significación α .

Z_{β} : **0.84** Valor de la distribución normal estandarizada para β .

\bar{x}_1 : **2** Promedio de la característica de estudio en grupo I.

\bar{x}_2 : **1.38** Promedio de la característica de estudio en grupo II.

σ^2 : **1.08** Desviación estándar

Resultado 6

ANEXO 02

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Experimental con múltiples repeticiones

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6
RG7	X7	O7
RG8	X8	O8
RG9	X9	O9

Donde:

- G1: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 200%
- G2: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 100%
- G3: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 50%
- G4: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 25%
- G5: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 12.5%
- G6: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 6.25%
- G7: Extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* 3.13%
- G8: Control negativo NaCl 0.9%.
- G9: Control positivo: con oxacilina



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 40-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que Jazmín Zayury Brito Castillo, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Universidad Privada César Vallejo ha depositado en este herbario la especie:

MYRTACEAE

***Syzygium aromaticum* (L.) Merr & L.M. Perry**

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados para los fines que correspondan.

Trujillo, 13 de noviembre del 2019

Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural



PROCEDIMIENTO

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Syzygium aromaticum* “Clavo de olor”, se obtendrá del mercado La Hermelinda de Trujillo, procedentes de la localidad de Puno, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevarán al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionarán los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtendrá la “muestra fresca” (MF). La MF se lavará con agua destilada clorada, se colocará sobre una bandeja de cartulina y se llevará a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidratará. Después, se estrujará manualmente el vegetal seco hasta que se obtendrá partículas muy pequeñas y se reservará almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* se obtendrá por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparán herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estará conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocará en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentara con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasara a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastrará los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se conducirá hacia el condensador en donde se convertirá en líquido que será recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disociará

en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizará en 2 horas. De este modo, se obtendrá el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocará en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.



3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizará agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparará suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

4. Método de macrodilución

se emplea por cada combinación microorganismo/antimicrobiano una batería de tubos. Habitualmente se prepara la batería de tubos con 1ml de medio estéril sin antimicrobiano. Al primero de ellos se añade 1 ml de la solución inicial del tubo de antimicrobiano hasta conseguir la concentración más alta a estudiar (teniendo en cuenta que este primer paso supone la dilución a la mitad de la solución madre, y que una vez inoculados los tubos, con 1 ml de inóculo, se diluirá nuevamente la concentración de antimicrobiano a la mitad). Tras mezclar



adecuadamente, se pasa 1 ml al siguiente tubo; el proceso se repite tantas veces como diluciones se quieran estudiar, eliminando del último tubo de la serie 1 ml de medio con antimicrobiano, con objeto de mantener el volumen final de 1 ml. Para cada paso de dilución se debe emplear una pipeta diferente. La serie de tubos se completa con uno de control sin antimicrobiano que solamente tiene 1 ml de caldo.



5. Inoculación

El inóculo final será de 5 (se acepta de 3 a 7) $\times 10^5$ CFU/ml, ó 5 $\times 10^4$ CFU/pocillo en la técnica de microdilución. En función de ello la suspensión inicial se diluirá en caldo Mueller-Hinton. En



el método de macrodilución se hará una dilución 1:100 de forma que al añadir 1 ml a los tubos con 1 ml de medio con antimicrobiano queden 106 CFU en 2 ml, es decir 5 $\times 10^5$ CFU/ml. De forma análoga, El inóculo ya diluido debe usarse antes de 15 minutos tras su preparación. Las placas de microdilución deben taparse o sellarse con adhesivo para evitar la evaporación del medio de cultivo cuando se incuben. Es necesario controlar el inóculo así preparado, sembrando alícuotas diluidas en medio sólido que, una vez incubadas, permitan el recuento del inóculo realmente usado.

Para evitar diferencias de temperatura en la incubación de bloques de placas de microtitulación no se deben apilar más de cuatro o cinco placas. Tras la incubación se procede a la lectura de los resultados. La CMI se define como la menor concentración de antimicrobiano que a simple vista inhibe completamente el crecimiento del microorganismo estudiado. La interpretación de los resultados, que a veces resulta compleja, se facilita tomando como referencia el crecimiento observado en los tubos o pocillos usados como control positivo.



ANEXO 05

RECOLECCIÓN DE DATOS

Nº	Concentración de aceite de clavo de olor (mg/ml)								DMSO
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	Nacl	
1	—	—	—	—	+	+	+	+	+
2	—	—	—	—	—	+	+	+	+
3	—	—	—	—	+	+	+	+	+
4	—	—	—	—	—	+	+	+	+
5	—	—	—	—	—	+	+	+	+
6	—	—	—	—	—	+	+	+	+

— : No hubo crecimiento bacteriano (Inhibición)

+ : Hubo crecimiento bacteriano (No inhibición)

Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del aceite de clavo sobre <i>Staphylococcus aureus</i>									
	Aceite clavo (mg/ml)							Oxacilina	DMSO
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125		
1	100	100	100	100	50	0	0	100	0
2	100	100	100	100	83.33	50	0	100	0
3	100	100	100	50	33.33	16.67	0	100	0
4	100	100	83.33	100	50	16.67	0	100	0
5	100	100	100	100	33.33	0	0	100	0
6	100	100	50	16.67	33.33	0	0	100	0

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde la Srta. JAZMÍN ZAYURY BRITO CASTILLO, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Syzygium aromaticum* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. estudio in vitro", durante los días 14 al 22 de mayo de 2019, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 20 días del mes de junio de 2019.



.....
José Luis Culla Quevedo
.....
BIOLOGO - MICROBIOLOGO
C.B.P. 6367

Gerente General

ANEXO 06

NORMAS MINSA

- Considerar el uso de barreras primarias para el ingreso al laboratorio, con protección corporal con la utilización de mandil, protección ocular y tapaboca, protección de las manos con guantes esteriles.
- Tener un correcto manejo con los tubos rotos y derrames de sustancias.
- Seguir las normas para la eliminación de los componentes utilizados en los lugares correspondientes.
- Todo accidente de trabajo comunicar al responsable del área.

Yo MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ, docente de la Facultad de Ciencias Médicas y Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, revisor (a) de la tesis titulada:

"..... *Efecto Antimicrobiano del extracto oleoso de*
Aspergillus oryzae sobre Staphylococcus
aureus ATCC 25923: Estudio In vitro
....."

del (de la) estudiante Brito Castillo Jazmín Zayury constato que la investigación tiene un índice de similitud de **20 %** verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

Trujillo 03 de Febrero del 2020.



Firma

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

DNI: 17907759

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable de SDC	Aprobó	Vice Rectorado de investigación
---------	----------------------------	--------	--------------------	--------	---------------------------------

Feedback Studio - Google Chrome

evulmin.com/app/carta/es?=-1&ro=103&u=108032488&lang=es&ro=1250954486

feedback studio

Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Styrium arumanticum* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: estudio in vitro

UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Styrium arumanticum* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: estudio in vitro

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

AUTORA

BRITO CASTILLO, JAZMIN ZAVUZY (ORCID: 0000-0003-1419-0784)

ASISORES

DR. YILMAZ SANER, M. ARIANNA ROBERTA PIÑAR (ORCID: 0000-0002-6764-4088)

M. C. DE CO, POLO GARCÍA, J. A. DE (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

DR. A. RUIZ, YIPANI A. A. MACHIC (ORCID: 0000-0000-2403-0072)

LINEA DE INVESTIGACION

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO - PERÚ

2019

Test only report | High Resolution

Activado

04:51 p. m. 3/02/2020

20 %

Resumen de coincidencias

Se están viendo fuentes estándar

Ver fuentes en inglés (beta)

Concidencias	
1	Entregado a Universidad... 12 % >
2	reportorio.ucv.edu.pe 2 % >
3	Entregado a Universidad... 1 % >
4	cybertheis.uam.mx.edu... <1 % >
5	guia hispanista.com.py <1 % >
6	Entregado a Universidad... <1 % >
7	gruposdeproyeccionel... <1 % >
8	docplayer.es <1 % >
9	fyto.com <1 % >

NOTA: Cualquier documento impreso diferente del original, y cualquier archivo electrónico que se encuentren fuera de la intranet UCV serán considerados como COPIA NO CONTROLADA.

	AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV	Código : F08-PP-PR-02.02
		Versión : 09
		Fecha : 05-12-2019
		Página : 1 de 1

Yo Bruto Castillo Jorman Zoruy identificado con DNI N° 73482777
egresado de la Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo,
autorizo (X), No autorizo () la divulgación y comunicación pública de mi trabajo
de investigación titulado
Efecto Antimicrobiano del extracto oleoso
de Syzygium aromaticum sobre Staphylococcus
aureus ATCC 25923 estudio in vitro;
en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo
estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art.
33

Fundamentación en caso de no autorización:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....


FIRMA

DNI: 73482777

FECHA: 05. de diciembre del 2019.

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vice Rectorado Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	------------------------------